

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年3月29日 (29.03.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/21763 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 1/18, 派町三丁目4-11 Hyogo (JP), 渡邊裕太郎 (WATANABE, Yutaro) [JP/JP]; 〒675-0022 兵庫県加古川市尾上町口里726-1 Hyogo (JP), 野田規夫 (NODA, Norio) [JP/JP]; 〒530-0015 大阪府大阪市北区中崎西一丁目6-37 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06538
- (22) 国際出願日: 2000年9月22日 (22.09.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願平11/269569 1999年9月22日 (22.09.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 鐘淵化学工業株式会社 (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒530-0005 大阪府大阪市北区中之島三丁目2番4号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高田勇人 (TAKATA, Hayato) [JP/JP]; 〒678-0043 兵庫県相生市大谷町3-23 Hyogo (JP), 辻本憲孝 (TSUJIMOTO, Noritaka) [JP/JP]; 〒676-0026 兵庫県高砂市高砂町沖
- (74) 代理人: 山本秀策 (YAMAMOTO, Shusaku); 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号 クリスタルタワー15階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AU, CN, JP, KR, US.
- (84) 指定国/広域: ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
— 明細書とは別に規則13の2に基づいて提出された生物材料の寄託に関する表示。
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL BAKER'S YEAST AND DOUGHS CONTAINING THE SAME

(54) 発明の名称: 新規パン酵母および該酵母を含有する生地

(57) Abstract: A baker's yeast which exhibits a strong fermentation power in doughs with a high osmotic pressure containing sodium chloride and various baking materials in baking methods such as the straight method, the sponge dough method and/or the freezing method and thus enables the production of favorable bread products having a large specific volume. More particularly speaking, a baker's yeast which is tolerant to a high osmotic pressure and withstands freezing in baking methods such as the straight method, the sponge dough method and/or the freezing method.

(57) 要約:

本発明は、パン製法のストレート法、中種法および／または冷凍法において、食塩および種々の製パン材料を加えた高浸透圧生地での発酵力が強く、比容積が大きく良好なパンを製造し得るパン酵母を提供する。詳細には、パン製法のストレート法および／または中種法において耐浸透圧性を有し、且つ冷凍耐性を有するパン酵母が提供される。

明 細 書

新規パン酵母および該酵母を含有する生地

5

技術分野

本発明は新規なパン酵母およびこの酵母を利用したパンの製造方法に関する。より詳細には、パン生地発酵において耐浸透圧性を有するパン酵母ならびにこれらのパン酵母を用いる種々の製パン材料を含む生地を使用した、ストレート法、中種法、および冷凍法によるパンの製造法に関する。

10

背景技術

パンには、フランスパン、食パンなど砂糖を添加していない又は添加量が少ないパンから菓子パンなど砂糖添加量の多いパンまで種々の生地組成のものがある。パンの製造に使用されるパン酵母も糖量に対して発酵性の異なるパン酵母が使用される場合が多い。砂糖添加量の多いパン生地の場合、使用されるパン酵母は耐糖性の強いパン酵母が選択されてきている。

15

耐糖性に関して、従来から述べられている耐糖性は、砂糖に対する耐性即ち耐砂糖性である。パン酵母の耐砂糖性に関する研究は古くから行われており、インベルターゼ活性との関連性についての報告がみられる。インベルターゼは、二糖である砂糖（ショ糖）をその構成単糖であるブドウ糖と果糖に分解する菌体外酵素である。砂糖は菌体外でインベルターゼにより単糖に分解された後、菌体内に取り込まれ栄養源として利用される。インベルターゼ活性が高いパン酵母の場合

は砂糖の単糖への分解が早く進むため、生地中パン酵母周辺の浸透圧が上昇しパン酵母の発酵が抑制されることになる。そのためインベルターゼ活性と耐砂糖性の間には負の相関関係が示唆されており、事実、現在菓子パン用に使用されてい

20

25

るパン酵母はインベルターゼ活性の低い菌株が選択されてきている。（イースト技報，58，77（1988））。

また、更に積極的にインベルターゼ活性の低いパン酵母を育種することにより
5 耐砂糖性を向上させた例も報告されている。例えば、インベルターゼ活性が低く
冷凍耐性を有し、砂糖分25%の生地を用いた製パンに使用可能なパン酵母（特
開平7-203952）、低インベルターゼ活性を有し、かつ砂糖分30%の生
地でも発酵力の高いパン酵母（特開平8-154666明細書）、およびインベ
10 ルターゼ活性が低く、かつマルターゼ活性が高いパン酵母を選択することにより
食パン製造にも菓子パン製造にも使用可能なパン酵母（特開平9-149785
明細書）が報告されており、インベルターゼ活性が高い砂糖濃度生地での発酵力
に關与していることが示されている。しかし、前述のごとく低インベルターゼ活
性パン酵母は、パン酵母自身が砂糖濃度に対して耐性となるのではなく、砂糖を
その構成単糖であるブドウ糖と果糖への分解を遅らせることにより、パン酵母周
15 辺の浸透圧上昇を抑え、結果的に耐砂糖性を有することになる。

一方、菓子パン生地発酵において、耐砂糖性に対するインベルターゼ活性の関
与は、パン酵母の耐浸透圧性よりも少ないとの報告もみられる（Food Microbiol., 7, 241（1990））。また、耐砂糖性に耐浸透圧性が関
20 与している例として、比較的高い砂糖濃度生地での発酵力と菌体内グリセロール
量との間に強い相関が認められるとの報告（Appl. Environ. Microbiol., 63, 145（1997））および外部より添加したグリセロール
を菌体内に取り込ませた結果発酵力の向上をみた例（Food Microbiol., 15, 51（1998））が報告されている。他にパン酵母の培養による
25 耐砂糖性の向上した例として、パン酵母の培養中にNaCl、KCl等の無機塩
添加により耐浸透圧性を高め、菓子パン生地での発酵力向上が報告されている（

米国特許第4、420、563号(1983))。

このように、耐砂糖性に関してこれまで報告されている例は、インペルターゼ活性が耐砂糖性に関与するとの報告と、インペルターゼの関与は限定的との報告がみられる。即ち、耐砂糖性は、インペルターゼ活性と耐浸透圧性との複合性質と考えられる。耐砂糖性に関しこれまでの育種例は、インペルターゼ活性の低下をはかる例が大部分であり、また、実用的な発酵力レベルで耐砂糖性が示されているのは砂糖分30%までであった。

通常パンの製法には、代表的に2通りの方法が良く行われている。1つはパン酵母の発酵力が直ちに反映されるストレート法であり、パン生地原料を一度に捏上げ発酵、焼成する方法である。他は、パン生地の作製を二段階で行い、前段階で発酵種即ち中種を作製・発酵した後、本捏生地を作製・発酵する中種法である。中種法では、パンの柔軟性およびガス保持力の増加によるパンボリュームの増大、パン生地の機械耐性の向上などの利点がありパンの製造によく用いられている。

こうした2通りの製法に適したパン酵母の作製例は、ストレート法および中種法で耐砂糖性を有する酵母(特開平10-191964)が報告されている。この例で示されている耐砂糖性は、ストレート法では砂糖分30%の生地であり、中種法では砂糖分25%の本捏生地である。

更に冷凍耐性パン酵母についても耐砂糖性のあるパン酵母の開発が行われている。冷凍耐性を有しかつ耐砂糖性を有するパン酵母に関して次のような例がみられる。菓子パン(砂糖25%)での冷凍後ホイロ時間及び比容積に優れているIAM4274(特開平59-203442)、冷凍耐性を有し砂糖30%含有生地でのガス発生量が市販パン酵母よりわずかに劣る程度と記載されているFTY-2(特開平7-203952明細書)、砂糖分25%生地での冷凍保存試験で

良好なパン酵母（米国特許第4、547、374号）、インベルターゼ活性が低く冷凍耐性を有し砂糖分25%生地を用いた製パンに使用可能なパン酵母（特開平7-203952明細書）、砂糖分30%生地で解凍後の発酵力残存率90%以上のパン酵母（特開平8-154666明細書）がある。また、菌体内トレハロース含量が冷凍耐性に関連しているとの見解から、遺伝子組み換えによりその分解系酵素であるNTHまたはATH遺伝子を破壊しトレハロースの分解を抑制することにより冷凍耐性の向上を試みた例もみられる（特開平10-117771明細書、特開平11-169180明細書）。

- 10 以上の例でも小麦粉に対する砂糖分が25%の菓子パンにおける冷凍耐性実施例が中心であり、最も高い砂糖添加量でも30%までの冷凍耐性実施例である。

（発明が解決しようとする課題）

- 15 製パン業界においては砂糖だけでなくブドウ糖を異性化酵素処理し一部を果糖に変えた異性化液糖が使用される場合も多い。砂糖添加生地ではパン酵母のインベルターゼにより砂糖が単糖に分解され浸透圧が次第に上昇することになるが、ブドウ糖および果糖より構成される異性化糖添加生地、更に砂糖を混合した砂糖混合異性化糖添加生地ではパン酵母は当初より浸透圧の高い生地で発酵を行うことになる。

- 20 また、パン生地には糖分以外に食塩や種々の製パン副材料が加えられ風味及び味の改善などにより特徴のあるパンがつくられている。パン生地に配合される糖以外の製パン副材料としては、油脂、牛乳・脱脂粉乳などの乳製品、卵などが代表的である。これらパン生地に加えられる製パン副材料中には食塩同様浸透圧に影響するものもあり、糖や食塩との共存により浸透圧を高め、パン酵母の発酵力を抑制する結果となる。
- 25

前述の如く、これまでストレート法や冷凍製パン法において、耐砂糖性を有するパン酵母の作製例は、生地中の砂糖分が30%までであり、また、中種法での本捏生地では砂糖分25%生地の報告が見られるだけであった。しかし、砂糖分30%以上の生地や糖分が30%以下であっても浸透圧が高くなる異性化糖などの添加生地および食塩や製パン副材料を加えた高浸透圧生地においては発酵が抑制されるため、パンのボリュームを充分に得ることがより難しくなる。公知菌株ではこうした高浸透圧生地での発酵に適したパン酵母は示されておらず、製パン法のストレート法、中種法および冷凍法のいずれにおいても、高浸透圧生地での発酵には不十分であった。

10

本発明は、これまで困難であった高浸透圧生地でも強い発酵が可能な耐浸透圧性パン酵母の作製および種々の高浸透圧生地において、ストレート法、中種法および冷凍法の製パン法に対応可能な新規パン酵母の作製を目的とした。

15

発明の開示

(課題を解決するための手段)

本発明は上記目的を達成するため、自然界より分離した菌株について、耐浸透圧性、中種耐性、冷凍耐性を指標に選択を繰り返した結果、これらの機能に優れた実用的な菌株の作製に成功した。

20

1つの局面において、本発明はパン生地発酵における耐浸透圧性を有するパン酵母に関する。

1つの実施態様において、本発明は、ストレート法において上記に記載の特性を有するパン酵母に関する。別の実施態様において、本発明は、中種法の本捏発酵において、上記の特性を有するパン酵母に関する。更に別の実施態様において、本発明は、ストレート法および中種法の本捏発酵の両方において、上記の特性を有するパン酵母に関する。本発明はまた、冷凍耐性を有するパン酵母に関する

25

。

1つの実施態様において、本発明のパン酵母は、糖量が35%の異性化糖組成生地において、炭酸ガス発生量が、該生地50g当たり、38℃、2時間の測定で少なくとも140mlである。

- 5 本発明の別の実施態様において、本発明は、本発明のパン酵母を含有する、パン生地に関する。本発明のさらに別の態様において、本発明は、本発明のパン酵母を使用する、パンの製造法に関する。

発明を実施するための最良の形態

- 10 以下、本発明を詳細に説明する。

まず、本明細書において使用される用語について説明する。本明細書において使用される用語は、以下に特に説明する場合を除いて、当該分野で通常使用される用語の意味と同一である。

15

本明細書において、砂糖、食塩、その他の製パン副材料の割合(%)は、小麦粉に対する重量割合をいう。例えば、砂糖分30%とは、パン生地において小麦粉100gに対して砂糖30gを使用することをいう。本明細書において、「製パン副材料」とは、小麦粉、食塩および水以外の製パンに使用されうる材料をい
20 い、例えば、砂糖、異性化糖、乳製品、卵、油脂などがあげられるがこれらに限定されない。

25

本明細書において、「高浸透圧生地」とは、製パン材料中、砂糖、異性化糖などの糖類に加え、食塩および乳製品などに含まれる浸透圧に関連する成分の合計モル数を砂糖のモル数に換算して、小麦粉に対する砂糖分30%のモル数以上に添加された生地である。また、本明細書において、「耐浸透圧性パン酵母」とは

、砂糖、ブドウ糖、果糖、砂糖混合異性化糖、異性化糖、食塩および乳製品などの製パン材料が添加された高浸透圧生地において強い発酵力を有するパン酵母をいう。更に、「強い発酵力」とは、例えば、糖量が35%の異性化糖組成生地において、炭酸ガス発生量が、該生地50g当たり、38℃、2時間の測定で140ml以上であることをいう。

異性化糖とは、本来ブドウ糖に異性化酵素を作用させて、一部を異性体の果糖に変化させたブドウ糖と果糖を含む糖のことをいうが、ブドウ糖と果糖を混ぜたものでも何ら問題ない。本明細書において、「異性化糖組成生地」とは、ブドウ糖と果糖を含む生地をいい、例えば、ブドウ糖と果糖を各々50%混合した糖を添加した生地であるがこれに限定されない。また、製パン業界では、異性化糖として、砂糖を混合した「砂糖混合異性化糖」がよく使用されるが、本明細書において、「砂糖混合異性化糖組成生地」とは、砂糖、ブドウ糖、果糖を含む生地をいい、例えば、砂糖50%、ブドウ糖および果糖を各々25%混合した糖があげられるがこれに限定されない。

本発明のパン生地発酵において耐浸透圧性を有するパン酵母は、種々の製パン材料によって生じるパン生地中の高浸透圧に対して耐性である。例えば、耐ブドウ糖性、耐果糖性、耐異性化糖性、耐食塩性および耐乳製品性などを言うがこれに限定されない。

耐浸透圧性に優れた本発明のパン酵母は、砂糖分30%以上の砂糖添加生地においても優れた耐砂糖性を示す。従来の育種例のようにインベルターゼ活性低下により耐砂糖性を有するパン酵母は、砂糖の分解抑制によりパン酵母周辺の浸透圧上昇を抑制することによる耐砂糖性であり、耐浸透圧性パン酵母と異なることは明らかである。

1つの実施態様において、本発明の耐浸透圧性を有するパン酵母は、小麦粉に
対し糖分35%の異性化糖組成生地において炭酸ガス発生量が38℃、2時間の
測定で生地50g当たり140ml以上、好ましくは150ml以上、更に好ま
しくは160ml以上を示すことを特徴とするパン酵母である。さらに好ましく
は35%糖濃度の異性化糖組成生地での炭酸ガス発生量に加えて、小麦粉100
gに対して砂糖40gを含む生地における38℃、2時間での生地50gあたりの
炭酸ガス発生量が180ml以上、好ましくは190ml以上、より好ましく
は200ml以上であることを特徴とするパン酵母である。

1つの局面において、本発明のパン酵母は中種耐性を有し得る。中種耐性とは、
中種発酵後の本捏発酵において耐浸透圧性を有することをいう。

通常中種法では前段階で糖濃度の低い(3%程度)生地を作製し一次発酵させ
る。これを中種発酵という。この中種発酵でパン酵母は活性化状態になると考え
られる。中種発酵に続く本捏発酵では糖成分および他の製パン材料により高浸透
圧となるため、パン酵母は活性化された状態で一気に高浸透圧生地で発酵するこ
とになる。そのため中種発酵即ち一次発酵による活性化後でも耐浸透圧性を有し
ているパン酵母が中種法に適したパン酵母即ち中種耐性パン酵母である。

本発明のパン酵母はこの前段階である中種発酵を経た後の本捏発酵においても
、添加糖が高濃度の砂糖、異性化糖、および食塩等の生地浸透圧を高める製パン
材料の存在下において強い発酵力を示し、耐浸透圧性を維持しているパン酵母で
ある。即ち、本発明における中種発酵後の本捏発酵において浸透圧耐性を示す中
種耐性パン酵母とは、表1の組成の加糖中種で30℃、150分中種発酵後、本
捏生地において、生地50g当たり38℃ 2時間の炭酸ガス発生量が140ml

1 以上、好ましくは 1 5 0 m l 以上のパン酵母である。

以上のように本発明のパン酵母は、ストレート法および中種法のいずれの製パン法においても耐浸透圧性を示す。

【表1】

配合		
	中種	本捏
小麦粉	70g	30g
イースト	3g	—
ブドウ糖	3g	15g
果糖	—	15g
水	39ml	15ml
工程		
1) 中種ミキシング		
2) 中種発酵 30℃ 2.5時間		
3) 本捏ミキシング		
4) 50g生地的气体発生量をファーマガス測定装置で38℃、2時間測定し本捏生地的气体発生量とした。		

別の局面において本発明のパン酵母はまた、高浸透圧生地において冷凍耐性を有することを特徴とする。これまで冷凍耐性は砂糖分30%までの生地についての報告がみられるだけあり、砂糖分30%を超える濃度、あるいは異性化糖、食塩、または乳製品などを含む高浸透圧生地での冷凍耐性に関する例は見られない。

冷凍後の発酵力は冷凍耐性の強さに加えて冷凍前の発酵力も重要である。本発明のパン酵母は強い冷凍耐性を有し、且つ冷凍前の高浸透圧生地において発酵力が強いので、冷凍後にも強い発酵力が維持されている。本発明の冷凍後の発酵力は、生地50gを混捏後30℃、60分間発酵し所定期間冷凍保存を行い、25

℃、60分間解凍後38℃における2時間の炭酸ガス発生量で示している。本発明における耐浸透圧性を有し、冷凍耐性を有しているパン酵母は、砂糖35%生地で4週間冷凍後の炭酸ガス発生量が300ml以上、好ましくは320ml以上であり、且つ砂糖混合異性化糖30%に食塩1%を添加した生地で4週間冷凍後の炭酸ガス発生量が270ml以上、好ましくは280ml以上を示すパン酵母をあげる。

本発明はストレート法において耐浸透圧性を有するパン酵母に関する。また、中種法の本捏発酵においても耐浸透圧性を有する中種耐性パン酵母である。好ましくはストレート法および中種法の両方において耐浸透圧性を有しているパン酵母である。さらに好ましくはストレート法および中種法において耐浸透圧性を有し、且つ冷凍耐性を有するパン酵母に関する。

本発明は、小麦粉に、糖類、食塩、卵、油脂、乳製品、乳化剤等の製パン材料ならびに本発明のパン酵母を含むパン生地に関する。本発明のパン酵母は、糖濃度が低いものから高いものまで種々の組み合わせのパン生地において使用可能であるが、特に糖分および種々の製パン材料の配合により高浸透圧である生地に適している。製法はストレート法または中種法のいずれにも適しており、冷凍保存にも十分使用可能である。

本発明のパン酵母は、パン製法のストレート法および／または中種法において耐浸透圧性を有し、且つ冷凍耐性を有するものであれば、特に限定はなく、自然界からのスクリーニングおよびパン酵母の育種技術である交雑、変異処理、細胞融合などの手法によっても得ることができる。好ましくは、冷凍耐性を有する株を含む複数株より交雑育種により作製することができる。これら交雑株より耐浸透圧性ならびに中種耐性株を選択さらに冷凍耐性株を選択し、実施例に示す培養

法により作製することができるパン酵母である。

本発明の好ましいパン酵母は、サッカロミセス・セレビシア (*Saccharomyces cerevisiae*) である。上記方法により選択した交雑株の代表としてKKK47株を挙げる。このKKK47株はサッカロミセス・セレビシアであり、本菌株は、1999年8月31日にFERM BP-7267として工業技術院生命工学工業技術研究所（日本国茨城県つくば市東1丁目1-3）に寄託されている（2000年8月7日移管請求受領）。

実施例

以下に本発明の実施例を記載するが、これらは本発明を例示的に記載するのみで、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、以下の実施例に使用した材料について、小麦粉は日清製粉（株）社製のカメリヤを使用し、イーストフードはカネプラスC（鐘淵化学工業（株）社製）、ショートニングはスノーライト（鐘淵化学工業（株）社製）、およびマーガリンはノヴァ11（鐘淵化学工業（株）社製）を使用した。その他の製パン材料および製パン副材料は、一般小売店で入手可能なものを使用した。また、対照菌株としては、鐘淵化学工業（株）から市販されているパン酵母3株を用いた。

市販パン酵母A（カネカ製 汎用酵母）

市販パン酵母B（カネカ製 冷凍耐性酵母）

市販パン酵母C（カネカ製 冷凍耐性酵母）

実施例1：交雑育種

本出願人が保有するサッカロミセス・セレビシア保存菌株より、冷凍耐性を有する2株を含む計3株を元株として使用した。これら元株はいずれも2倍体であり、孢子形成培地で孢子を形成させ、次のステップで交雑育種を実施した。

1) 2株の冷凍耐性株由来の胞子に通常酵母由来の胞子を各々交雑し、多数の第一世代交雑株を作製した。

5 2) 第一世代交雑株を再度胞子形成させ、冷凍耐性元株の系統が異なる交雑株に由来する胞子間交雑を行い、第二世代交雑株を作製した。

3) 第二世代交雑株より更に胞子を形成させ、種々組み合わせで再交雑を実施、第三世代交雑株を作製した。

10

各世代で多数作製した交雑株について、耐浸透圧性、中種耐性および冷凍耐性を指標に次世代交雑株作製の元株を選択した。世代毎に各機能の向上をはかり、最終的に第三世代交雑株より目的機能を有した本発明のKKK47株を取得した。

15

実施例2：パン酵母菌体の作製方法

表2組成の培地を5ml／大型試験管、50ml／500ml坂口フラスコに分注し、オートクレーブ殺菌した後培養に使用した。

20 交雑育種株1白金耳を大型試験管に全量植菌し、30℃、1日振とう培養後500ml坂口フラスコに継植、更に30℃、1日振とう培養により作製した菌体を5Lジャー培養に供した。

【表2】

フラスコ種母培養

培地組成	
糖(糖蜜)	4.0%
尿素	0.3%
硫酸アンモニウム	0.08%
リン酸2水素アンモニウム	0.04%
硫酸亜鉛	5ppm

- 5 L ジャーに表3 組成の培地を2 L 入れ、オートクレーブ殺菌後、500 ml
5 坂口フラスコ5 本分の菌体を植菌し表4 の条件で培養を行った。

【表3】

5Lジャー種母培養

培地組成	
糖(糖蜜)	90g
尿素	6.75g
硫酸アンモニウム	1.8g
リン酸2水素アンモニウム	0.9g
硫酸亜鉛	11.25mg
水	2250ml

【表4】

通気	2. 0nl/min
攪拌	650rpm
温度	33℃
pH	4. 7コントロール (14%アンモニア水使用)

・ 5 L ジャー本培養

始発液量を表 5 の培地組成で、5 L ジャーで培養した酵母菌体を湿菌体として

5 50 g 添加し表 6 の条件により培養した。

【表5】

5Lジャー本培養

培地組成	
糖(糖蜜)	230g
尿素	4. 9g
75%リン酸	1. 4ml
硫酸亜鉛	20mg
硫酸銅	3. 15mg
ビタミンB1	10. 5mg
水	2000L

【表6】

通気	2. 5nl/min
攪拌	650rpm
温度	33℃
pH	4. 7コントロール (14%アンモニア水使用)

1 3 時間培養を行い、糖は1 2 時間培養の間に分割添加した。

- 5 培養菌体は培養終了後直ちに遠心分離し、ヌッチェにより吸引脱水し湿菌体を作製、以下の実施例に使用した。実験に使用する際には、湿菌体の水分含量を測定し、使用量は6 5 %水分に換算した。

- 10 以上のようにして得た本発明のパン酵母について、ストレート法により、パン酵母のガス発生量を比較した（実施例3～7）。炭酸ガス発生量測定法は、各実施例記載の生地組成でホバート卓上ミキサーにより3 分間ミキシング、生地玉5 0 g を分割し3 8 °でのガス発生量をファームグラフ（ATTO社製）により2 時間測定した。

15 実施例3：ストレート法 耐浸透圧性（1）

表7 に示すブドウ糖および果糖添加生地において、KKK 4 7、市販パン酵母A、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、炭酸ガス発生量を測定比較した。その結果を表8 に示す。

【表7】

生地組成

	ブドウ糖生地	果糖生地
小麦粉	100g	100g
パン酵母	4g	4g
グルコース	35g	—
果糖	—	35g
水	50ml	50ml

【表8】

ガス発生量

	ブドウ糖生地	果糖生地
KKK47	231ml	163ml
市販パン酵母A	151ml	86ml
市販パン酵母B	160ml	90ml
市販パン酵母C	186ml	115ml

ブドウ糖、果糖を小麦粉に対し糖量として35%添加した高浸透圧生地での発酵力比較では、本発明のKKK47は、市販パン酵母に比べガス発生量が多く、耐浸透圧性に優れているといえる。

実施例4：ストレート法 耐浸透圧性（2）

表9示す砂糖混合異性化糖組成生地および異性化糖組成生地（糖濃度35%）において、KKK47、市販パン酵母A、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、炭酸ガス発生量を比較した。結果を表10に示す。

【表9】

生地組成

	砂糖混合異性化糖組成生地	異性化糖組成生地
小麦粉	100g	100g
パン酵母	4g	4g
砂糖	17.5g	—
ブドウ糖	8.75g	17.5g
果糖	8.75g	17.5g
水	50ml	50ml

【表10】

ガス発生量

	砂糖混合異性化糖	異性化糖
	組成生地	組成生地
KKK47	239ml	187ml
市販パン酵母A	163ml	116ml
市販パン酵母B	172ml	116ml
市販パン酵母C	211ml	135ml

糖濃度3.5%であるが同糖濃度の砂糖添加生地より高浸透圧である、砂糖混合異性化糖組成生地、異性化糖組成生地でもガス発生量は、市販パン酵母と比較してKKK47が優れており、ブドウ糖、果糖添加生地と同様に砂糖混合異性化糖組成生地、異性化糖組成生地においても耐浸透圧性に優れているといえる。

実施例 5：ストレート法 耐浸透圧性 (3)

表 11 に示す砂糖 30% 生地および砂糖 30% + 食塩 3% 生地において、KKK47、市販パン酵母 A、市販パン酵母 B、市販パン酵母 C について、炭酸ガス発生量を測定比較した。

5

【表 11】

生地組成

	砂糖30%生地	砂糖30%+ 食塩3%生地
小麦粉	100g	100g
パン酵母	4g	4g
砂糖	30g	30g
食塩	—	3g
水	52ml	52ml

【表 12】

ガス発生量

	砂糖30%生地	砂糖30%+ 食塩3%生地
KKK47	366ml	182ml
市販パン酵母A	322ml	95ml
市販パン酵母B	341ml	98ml
市販パン酵母C	313ml	128ml

10

砂糖 30% に加えて更に食塩添加により浸透圧を高め、耐食塩性を調べた。市販パン酵母 3 製品では、砂糖分 30% 生地と更に食塩添加した生地では発酵力順

位が異なり、従来の砂糖分 30%までの耐砂糖性と耐食塩性（耐浸透圧性）が異なることを示している。本発明のKKK47は、食塩による耐浸透圧性に関しても優れているといえる。

5

実施例 6：ストレート法 耐浸透圧性（4）

表 13 に示す砂糖 30%生地および砂糖 30%生地+乳製品生地において、KKK47、市販パン酵母A、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、炭酸ガス発生量を測定比較した。

10

結果を表 14 に示す。

【表13】

生地組成

	砂糖30%生地	砂糖30%+ 乳製品生地
小麦粉	100g	100g
パン酵母	4g	4g
砂糖	30g	30g
脱脂粉乳	—	4g
牛乳	—	50ml
水	52ml	5ml

【表14】

ガス発生量

	砂糖30%生地	砂糖30%+ 乳製品生地
KKK47	355ml	240ml
市販パン酵母A	322ml	180ml
市販パン酵母B	340ml	185ml
市販パン酵母C	320ml	216ml

- 砂糖分30%生地および砂糖30%に乳製品を添加し耐乳製品性（耐浸透圧性）を高めた生地での発酵力を比較した。市販パン酵母3製品の砂糖30%生地における耐砂糖性と乳製品を加えた生地での発酵力順位は実施例5と同様の傾向を示した。乳製品により浸透圧を高めた生地での発酵に関してもKKK47は優れているといえる。

10

実施例7：ストレート発酵 耐砂糖性

表15に示す砂糖30%生地および砂糖40%生地において、KKK47、市販パン酵母A、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、炭酸ガス発生量を測定比較した。

15

結果を表16に示す。

【表15】

生地組成

	砂糖添加量	
	30%	40%
小麦粉	100g	100g
パン酵母	4g	4g
砂糖	30g	40g
水	52ml	47ml

【表16】

ガス発生量

	砂糖添加量	
	30%	40%
KKK47	362ml	218ml
市販パン酵母A	303ml	119ml
市販パン酵母B	346ml	135ml
市販パン酵母C	315ml	174ml

5

10

実施例5および6と同様に、砂糖分30%生地における市販パン酵母3製品の発酵力は、市販パン酵母Bが最も高いが、砂糖分40%生地での発酵力は、順位が異なり市販パン酵母Cが最も高くなっている。これは砂糖分30%生地で耐砂糖性を有することは、それ以上の砂糖濃度生地における耐砂糖性を有することではないことを意味している。耐浸透圧性のあるKKK47株は、砂糖分40%生地での発酵力に優れており、砂糖分30%から40%への糖添加量増加に伴う発酵抑制の程度が小さく、耐砂糖性にも優れているといえる。

実施例 8：中種法

次に中種法の本捏糖組成の違いによる炭酸ガス発生量比較を行った。

- 5 表 17 の中種組成でホバート卓上ミキサーにより 3 分間ミキシング、30℃、
150 分間中種発酵を行い、発酵させた中種生地を本捏生地組成と更に 3 分間ホ
バート卓上ミキサーでミキシング、生地 50g の 38℃における炭酸ガス発生量
をファーモグラフで 2 時間測定した。

結果を表 18 に示す。

10

【表17】**生地組成**

	中種組成	本捏組成		
		(1)	(2)	(3)
小麦粉	70g	30g	30g	30g
パン酵母	3g	—	—	—
砂糖	—	25g	12.5g	—
ブドウ糖	3g	—	6.25g	15g
果糖	—	—	6.25g	15g
水	39ml	15ml	15ml	15ml

本捏生地組成 (1) 砂糖 25% 生地

(2) 糖濃度 25% 砂糖混合異性化糖組成生地

15

(3) 糖濃度 30% 異性化糖組成生地

【表18】

ガス発生量

	本捏生地		
	(1)	(2)	(3)
KKK47	301ml	264ml	179ml
市販パン酵母A	248ml	198ml	109ml
市販パン酵母B	305ml	235ml	130ml
市販パン酵母C	258ml	219ml	82ml

本捏生地糖濃度および糖組成は、(1) 砂糖分25%生地、(2) 糖分25%砂糖混合異性化糖組成生地および(3) 糖分30%異性化糖組成生地であり、
 5 順次浸透圧の高い本捏生地となっている。高浸透圧生地におけるストレート法では、市販パン酵母Cがガス発生量の高い結果であったが、中種法の本捏生地発酵力では、高浸透圧本捏生地でも市販パン酵母Bのガス発生量が高く、両製法では、耐浸透圧性が異なることを示している。

10

高浸透圧生地になるに従い、いずれのパン酵母もガス発生量の低下が見られるが、本発明のKKK47は、高浸透圧生地でもガス発生量が最も高く、且つ浸透圧向上に伴う発酵力抑制程度も小さく、中種発酵により活性化した後でも、耐浸透圧性を有しているといえる。

15

実施例9：冷凍耐性

冷凍耐性について検討した。

表19に示す砂糖35%生地および砂糖異性化糖組成生地を作製し、冷凍前と

冷凍4週間後のKKK47、市販パン酵母A、市販パン酵母B、市販パン酵母Cの炭酸ガス発生量を測定比較した。

結果を表20に示す。

【表19】

生地組成		
	砂糖35%	砂糖混合異性化糖 生地組成(糖分30%)
小麦粉	100g	100g
パン酵母	5g	4g
砂糖	35g	15g
ブドウ糖	—	7.5g
果糖	—	7.5g
食塩	0.5g	1g
水	50ml	52ml
工程		
ミキシング	ホバートミキサー 3分	
分割	生地玉 50g	
前発酵	30℃ 60分	
冷凍前測定	38℃ 2HR ガス発生量測定	
冷凍	-30℃ 1HR -20℃ 所定期間	
解凍	25℃ 1HR	
測定	38℃ 2HR ガス発生量測定	

【表20】

冷凍前後のガス発生量

	砂糖35%生地	
	冷凍前	冷凍4週間
KKK47	362ml	351ml
市販パン酵母B	294ml	254ml
市販パン酵母C	310ml	272ml
	砂糖混合異性化糖30%生地	
	冷凍前	冷凍4週間
KKK47	302ml	299ml
市販パン酵母B	246ml	228ml
市販パン酵母C	287ml	260ml

- 5 KKK47は、耐浸透圧性に優れているため、高砂糖生地および高浸透圧生地において、冷凍前の発酵力が強く、且つ冷凍耐性にも優れているため、冷凍後の発酵力は強く維持されている。

実施例10：ストレート製パン試験

- 10 表21に示す生地組成で、KKK47、市販パン酵母Cについて、ストレート製パン試験を行い、比容積を測定した。比容積は、菜種置換法で測定した。

結果を表22に示す。

【表21】

生地組成	
小麦粉	100 %
パン酵母	3
異性化液糖	28
食塩	1. 5
ショートニング	8
イーストフード	0. 1
脱脂粉乳	2
鶏卵	10
水	48
工程	
ミキシング	L3M3H1 ↓ L2M2H2
捏上げ温度	28℃
フロアタイム	90分(28℃)
分割	400g
ベンチタイム	40分(28℃)
成型	
ホイロ	38℃ 45分
焼成	200℃ 30分

【表22】

パン比容積

KKK47	5. 2
市販パン酵母C	4. 8

砂糖混合異性化糖に食塩およびショートニング、脱脂粉乳等の製パン副材料を加えた生地でのストレート製パン試験でも、KKK47は比容積（ボリューム）の良好なパンとなった。

5

実施例 11：中種製パン試験（1）

表 23 に示す生地組成で、KKK47、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、中種製パン試験を行い比容積を測定した。

結果を表 24 に示す。

【表23】

生地組成		
	中種	本捏
小麦粉	70 %	30 %
パン酵母	3	—
異性化液糖	3	25
食塩	—	1.5
ショートニング	—	8
イーストフード	0.1	—
脱脂粉乳	—	2
鶏卵	—	10
水	40	8
工程		
中種ミキシング	L3M3	
捏上温度	24℃	
中種発酵	28℃ 2時間	
本捏ミキシング	L2M2H2 ↓ L3M3H1	
捏上温度	28℃	
フロアタイム	50分	
分割	400g	
ベンチタイム	15分	
ホイロ	38℃ 45分	
焼成	200℃ 30分	

【表24】
パン比容積

KKK47	5.3
市販パン酵母B	5.0
市販パン酵母C	4.8

- 5 本捏生地では、同糖濃度の砂糖より浸透圧の高い砂糖混合異性化糖を使用し、食塩および脱脂粉乳などの製パン副材料を加えた生地での製パン試験の結果、KKK47は、中種法でも比容積の大きなパンとなり、高浸透圧生地での製パンに適していることが確認された。

実施例12：中種法（2）

- 10 表25に示す生地組成で、KKK47、市販パン酵母B、市販パン酵母Cについて、中種製パン試験を行い、比容積を測定した。

結果を表26に示す。

【表25】

生地組成		
	中種	本捏
小麦粉	70 %	30 %
パン酵母	3.5	—
砂糖	3	35
食塩	—	1.5
マーガリン	—	20
イーストフード	0.1	—
牛乳	—	10
乳化剤	0.25	—
鶏卵	—	15
水	28	8
工程		
中種ミキシング	L3M3	
捏上温度	24℃	
中種発酵	28℃ 2時間	
本捏ミキシング	L3M5 ↓ M5 ↓ M5H1	
捏上温度	27℃	
フロアタイム	28℃ 60分	
分割	400g	
ベンチタイム	28℃ 20分	
成型		
ホイロ	38℃ 50分	
焼成	200℃ 30分	

【表26】

パン比容積

KKK47	5.1
市販パン酵母B	4.4
市販パン酵母C	4.2

- 5 本捏生地組成が、砂糖35%の高砂糖濃度である中種法では、KKK47は非常に優れた製パン性を示し、ストレート法と同様に中種法でも高砂糖濃度に耐性を有することが確認された。

実施例13：冷凍製パン試験

- 10 表27に示す生地組成で、KKK47、市販パン酵母Cについて、冷凍性パン試験を行い、比容積を測定した。

結果を表28に示す。

【表27】

生地組成	
小麦粉(強力粉)	100 %
パン酵母	6
砂糖	35
食塩	1.5
マーガリン	20
生地改良材	2
牛乳	10
鶏卵	15
水	33
工程	
ミキシング	L3M5 ↓ M5 ↓ M5
捏上温度	22℃
フロアタイム	28℃ 30分
分割	60g
ベンチタイム	15分
成型	ロール型
冷凍	-30℃1時間急冷 -20℃で冷凍保存
解凍	25℃ 60分
ホイロ	38℃ 60分
焼成	200℃ 12分

【表28】

パン比容積

	冷凍期間		
	1週間	2週間	4週間
KKK47	6.2	6.2	6.1
市販パン酵母C	5.8	5.7	5.5

砂糖 3.5 % の高砂糖生地での冷凍耐性例であるが、KKK47 はこうした高砂糖生地でも発酵力が強く、且つ冷凍耐性にも優れているため、冷凍期間に伴うパンボリュームの低下はほとんど見られなかった。

(発明の効果)

本発明のパン酵母は、耐浸透圧性に優れており、高浸透圧生地におけるストレート製パン、中種製パン、冷凍製パンのいずれにも対応可能である。また、本発明のパン酵母は高砂糖生地に加えて、異性化糖、食塩および種々の製パン副材料による高浸透圧に対して発酵力に優れているため、ボリュームの良好なパンを作製できるとともに、種々製パン材料の組み合わせの幅を広げることによりこれまでよりもバラエティーのあるパン製品の作製が可能となる。

15

本明細書において、本発明の種々の局面が特定の実施態様に関して記載してきたが、本発明の変更および改変は、本開示から明白であり、この開示は、添付の請求の範囲に示されるような本発明の精神および範囲内にあることが理解される。

請 求 の 範 囲

1. パン生地発酵において耐浸透圧性を有するパン酵母。
- 5 2. パン製法のストレート法において、請求項1に記載の特性を有する、パン酵母。
3. パン製法の中種法本捏発酵において、中種耐性を有する、請求項1に記載のパン酵母。
- 10 4. パン製法のストレート法および中種法本捏発酵の両方において、請求項1に記載の特性を有する、パン酵母。
5. 冷凍耐性をさらに有する、請求項1～4のいずれか1項に記載のパン酵母。
- 15 6. 糖量が35%の異性化糖組成生地において、炭酸ガス発生量が、該生地50g当たり、38℃、2時間の測定で少なくとも140mlである、請求項1～5のいずれか1項に記載のパン酵母。
- 20 7. 請求項1～6に記載のパン酵母を含有する、パン生地。
8. 請求項1～6に記載のパン酵母を使用する、パン製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06538

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C12N 1/18, A21D 8/04 //(C12N 1/18, C12R 1:865)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C12N 1/16-1/19, A21D 8/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	EP, 1036841, A1 (ORIENTAL YEAST CO., LTD.), 20 September, 2000 (20.09.00) & JP, 2000-262275, A & CA, 2300436, A1	1-8
X	JP, 5-64581, A (Kanegafuchi Chem. Ind. Co., Ltd.), 19 March, 1993 (19.03.93) (Family: none)	1-8
X	JP, 10-191964, A (Kanegafuchi Chem. Ind. Co., Ltd.), 28 July, 1998 (28.07.98) (Family: none)	1-4, 6-8 5
Y	JP, 8-154666, A (Kanegafuchi Chem. Ind. Co., Ltd.), 18 June, 1996 (18.06.96) (Family: none)	5 1-4, 6-8
A	JP, 9-149785, A (Nippon Beet Sugar MFG. Co., Ltd.), 10 June, 1997 (10.06.97) (Family: none)	1-8
A	JP, 2-20284, A (Kanegafuchi Chem. Ind. Co., Ltd.), 23 January, 1990 (23.01.90) (Family: none)	1-8
A	JP, 10-243783, A (Akita Pref. Gov.), 14 September, 1998 (14.09.98) (Family: none)	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 January, 2001 (17.01.01)Date of mailing of the international search report
30 January, 2001 (30.01.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06538

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP, 645094, A (GIST-BROCADES N.V.), 29 March, 1995 (29.03.95) & JP, 7-177877, A & AU, 9474174, A & US, 5968790, A	1-8

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/06538

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C12N 1/18, A21D 8/04 // (C12N 1/18, C12R 1:865)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C12N 1/16-1/19, A21D 8/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	EP, 1036841, A1 (ORIENTAL YEAST CO., LTD.) 20. 9月. 2000 (20. 09. 00) & JP, 2000-262275, A & CA, 2300436, A1	1-8
X	JP, 5-64581, A (鐘淵化学工業株式会社) 19. 3月. 1993 (19. 03. 93) (ファミリーなし)	1-8
X Y	JP, 10-191964, A (鐘淵化学工業株式会社) 28. 7月. 1998 (28. 07. 98) (ファミリーなし)	<u>1-4, 6-8</u> 5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17. 01. 01

国際調査報告の発送日

3 0.01.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JPT)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N 2937

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>Y</u>	JP, 8-154666, A (鐘淵化学工業株式会社)	5
A	18. 6月. 1996 (18. 06. 96) (ファミリーなし)	1-4, 6-8
A	JP, 9-149785, A (日本甜菜製糖株式会社)	1-8
	10. 6月. 1997 (10. 06. 97) (ファミリーなし)	
A	JP, 2-20284, A (鐘淵化学工業株式会社)	1-8
	23. 1月. 1990 (23. 01. 90) (ファミリーなし)	
A	JP, 10-243783, A (秋田県)	1-8
	14. 9月. 1998 (14. 09. 98) (ファミリーなし)	
A	EP, 645094, A (GIST-BROCADES N.V.)	1-8
	29. 3月. 1995 (29. 03. 95)	
	& JP, 7-177877, A & AU, 9474174, A & US, 5968790, A	